

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-297497

(43) 公開日 平成4年(1992)10月21日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 7/06	Z N A Z	8318-4H		
A 6 1 K 37/02	A B F	8314-4C		
	A B G	8314-4C		
	A B M	8314-4C		
	A E P	8314-4C		

審査請求 未請求 請求項の数29(全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平3-295285	(71) 出願人	591032482 シンテツクス (ユー・エス・エイ) インコーポレイテッド SYNTEX (U. S. A.) INCORPORATED アメリカ合衆国94304カリフォルニア州 パロ・アルト、ヒルビユー・アベニュー 3401番
(22) 出願日	平成3年(1991)8月23日	(72) 発明者	ジヨン ジョセフ ネスター, ジュニア アメリカ合衆国カリフォルニア州クーパーチ ノ, フェアーウツズ コート 20937
(31) 優先権主張番号	5 7 2 7 2 2	(74) 代理人	弁理士 浅村 皓 (外3名)
(32) 優先日	1990年8月24日		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ブラジキニン拮抗薬

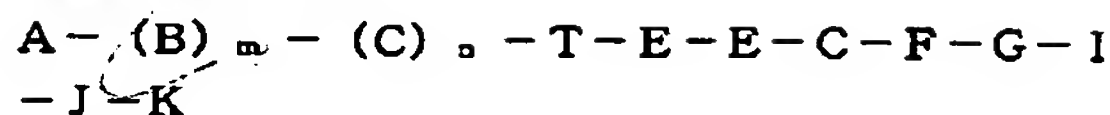
(57) 【要約】

【目的】 本発明は、ブラジキニンの生物活性に拮抗薬として作用する化合物、その製造方法および該化合物を有効成分とする医薬組成物を提供する。

【構成】 本発明のブラジキニン拮抗薬は、アルギニンまたはホモアルギニンの誘導体を含んだブラジキニン類似体を含んでなる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式:



式中: Aは、H、アシルまたはグリコシルであり; Bは、D-Arg、Arg(R₁)、D-Arg(R₁)、hArg(R₁)、D-hArg(R₁)、Arg(R₁, R₂)、D-Arg(R₁, R₂)、hArg(R₁, R₂) またはD-hArg(R₁, R₂) であり、ここでR₁はアルキルもしくはフルオロアルキル、およびR₂はシアノ、アルキルもしくはフルオロアルキルであり; Cは、β-Ala、GlyもしくはAsp、Glyであり; Tは、ArgもしくはBであり; Eは、HypもしくはProであり; Fは、Nal(1)、Nal(2)、Phe、Phe(C1)、Phe(F₅)、Thi、Trp、もしくはTyr(OMe)であり; Gは、Gly、D-Phe、Ser、もしくはD-Thiであり; Iは、D-Ala、D-Dic、D-Hyp、D-Nal(1)、D-Nal(2)、D-Ohc、D-Oic、D-Pal(3)、D-Phe、D-Phe(C1)、D-Pip、D-Pro、D-Thi、D-Thp、D-Tic、D-Trp、D-Tyr、D-Tyr(Me)、D-αMeNal(2)、D-αMePhe、もしくはD-MePhe(C1)であり; Jは、Dic、Hyp、Nal(1)、Nal(2)、Ohc、Oic、Phe、Phe(F₅)、Phe(C1)、Pip、Pro、Thi、Thp、Tic、Tyr(Me)、Tyr(Et)、αMeNal(2)、αMePheもしくはαMePhe(C1)であり; Kは、ArgもしくはBであり; mは、1、2、3、4もしくは5であり; および、nは、0、1もしくは2である; を有する化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項2】 式中: Aは、Hもしくはアセチルであり; mは1; nは0であり; Bは、D-Arg、hArg(R₁, R₂)、D-hArg(R₁, R₂)、Arg(R₁, R₂)もしくはD-Arg(R₁, R₂)であり; Cは、Glyであり; Tは、Arg、Arg(R₁)もしくはArg(R₁, R₂)であり; Eは、HypもしくはProであり; Fは、Thi、Phe、Phe(F₅)、Nal(2)、もしくはPhe(C1)であり; Gは、Serであり; Iは、D-Phe、D-Phe(C1)、もしくはD-Ticであり; Jは、Oic、Phe、Pro、Tic、Thi、Phe(C1)、Tyr(Et)、Phe(F₅)、もしくはTyr(Me)であり; Kは、Arg、Arg(R₁)もしくはArg(R₁, R₂)であり; R₁およびR₂は、独立してMe、Et、もしくはCH₂CF₃である、請求項1に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項3】 Bが、Arg(R₁, R₂)、D-Arg(CH₂CF₃)₂、hArg(CH₂CF₃)₂もしくはD-hArg(CH₂CF₃)₂である請求項2に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項4】 Kが、Arg(Me)、Arg(Me₂)、もしくはArgである請求項3に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項5】 Fが、Phe、Phe(C1)、もしくはThiであり; R₁およびR₂が独立してMe、EtもしくはCH₂CF₃である請求項4に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項6】 AがHであり; BがD-hArg(CH₂CF₃)₂であり; TがArg(Me₂)であり; E-EがPro-Hypであり; IがD-Ticであり; JがOic、Pro、もしくはTicであり; KがArg(Me₂)もしくはArgである請求項5に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項7】 FがPheであり、JがProであり、およびKがArg(Me₂)である請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項8】 FがPheであり、JがTicであり、およびKがArg(Me₂)である請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項9】 FがThiであり、JがOicであり、およびKがArg(Me₂)である請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項10】 FがPhe(C1)であり、JがProであり、およびKがArg(Me₂)である請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項11】 FがPheであり、JがProであり、KがArgである請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項12】 FがPhe(C1)であり、JがProであり、およびKがArgである請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項13】 FがThiであり、JがOicであり、およびKがArgである請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項14】 FがThiであり、JがTicであり、およびKがArgである請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項15】 FがPheであり、JがOicであり、およびKがArg(Me₂)である請求項6に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項16】 AがHであり; BがD-hArg(CH₂CF₃)₂であり; TがArg(Et)であり; E-Eが-Pro-Hyp-であり; FがPheであり; IがD-Ticであり; JがOicであり; およびKがArg(Me₂)である請求項5に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項17】 AがHであり；BがD-hArg (C₆H₄CF₃)₂であり；TがArgもしくはArg (Me)であり；-E-E-が-Pro-Hyp-であり；FがPheもしくはThiであり；IがD-PheもしくはD-Ticであり；JがTyr (Me)、ProもしくはOicであり；およびKがArg (Me)である請求項5に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項18】 TがArgであり、FがPheであり、IがD-Ticであり、およびJがTyr (Me)である請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項19】 TがArgであり、FがThiであり、IがD-Ticであり、およびJがOicである請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項20】 TがArg (Me)であり、FがPheであり、IがD-Pheであり、およびJがTyr (Me)である請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項21】 TがArg (Me)であり、FがPheであり、IがD-Ticであり、およびJがProである請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項22】 TがArg (Me)であり、FがThiであり、IがD-Ticであり、およびJがOicである請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項23】 TがArg (Me)であり、FがPheであり、IがD-Ticであり、およびJがOicである請求項17に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項24】 請求項1に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩の治療的に有効な量を、少なくとも1種の医薬的に許容される賦形剤との混合物として含む医薬組成物。

【請求項25】 請求項1に記載のブラジキニン拮抗薬化合物またはその医薬的に許容される塩の治療的に有効量の投与を含んでなる外傷またはブラジキニンにより誘発もしくは媒介されるヒトの病的症状の治療方法。

【請求項26】 治療すべき症状が、変形性関節症またはリウマチ性関節症またはアレルギー性もしくはウイルス性鼻炎である請求項25に記載の方法。

【請求項27】 外傷またはブラジキニンにより誘発もしくは媒介されるヒトの病的症状の治療、特に治療すべき症状が変形性関節症またはリウマチ性関節症またはアレルギー性もしくはウイルス性鼻炎の治療用の請求項1に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項28】 医薬組成物調製用の請求項1に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩の使用。

【請求項29】 保護基および場合により共有的に結合する固体担体を、保護ポリペプチドから脱離させて式(I)の化合物またはその塩を産生するか；または所望の式(I)の化合物の2個の断片を必要な配列をもって結合させるか；あるいは、(a) 式(I)の化合物を医薬的に許容される塩に変換する、または(b) 式(I)の化合物の塩を医薬的に許容される塩に変換する、または(c) 式(I)の化合物の塩を式(I)の遊離のポリペプチドに変換すること、を含んでなる請求項1に記載の化合物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【産業上の利用分野】

【0001】 本発明は、ブラジキニンの生物学的活性に拮抗薬として作用する化合物に関するものである。本発明は、特に誘導アルギニンまたはホモアルギニンN-末端残基を含むブラジキニン類似体に関するものである。

【0002】

【従来技術】 ブラジキニンは、天然に産生するノナペプチドである。ブラジキニンならびにその関連物質であるLys-ブラジキニン(カリジン)およびMet-Lys-ブラジキニンは、組織損傷、外傷またはその他の信号に応答して血漿中または組織中に見出される前駆体分子(例えばカリクレイン)から酵素反応的に切り出される(Burchらの、Med. Res. Rev. 1990, 10:237参照)。ブラジキニンは、特異的受容体との相互作用により直接的に、あるいは前駆炎症性プロスタグランジン類、ロイコトリエン類および血小板活性化因子(PAF)を産生するアラキドン酸カスケードの活性化により間接的に、組織内に痛みおよび炎症を引き起こす多くの影響を及ぼす。加うるに、ブラジキニンは、腸および気管支の平滑筋を収縮させて下痢およびぜん息を引き起こし得る。鼻炎(Proudらの、J. Clin. Invest. 1983, 72:1678)、ショック(Welpertらの、Br. J. Pharmacol. 1988, 94:282)、炎症誘発骨吸収(Lernerらの、Arthritis and Rheumatism 1987, 30:530)、狭心症(Steranka、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 1988, 85:3245)ならびに他の疾患過程、例えば脾臓炎、癌性症候群、凝血、および補体媒介反応等の症状におけるブラジキニンの関与は、当業者には周知である。

【0003】 ブラジキニンの痛みの生理学的指示物質としての役割については重要な証拠が存在する。ブラジキニンは、効力の高い疼痛性物質として周知である(Collierらの、Br. J. Pharmacol. 1963, 21:151)。ヒトにおいて、ブラジキニンは、皮内的、動脈内的もしくは腹腔内的注射の後に加え、水疱性基底(blister base)への適用の後に焼けるような、刺すような痛みを生じる(W.

G. Clarkのブラジキニン、カリジンおよびカリクレイン、XXV巻、Supplement, Handbook of Experimental Pharmacology, E. G. Erdos編、Springer-Verlag, New York, 1979, 569-607頁)。更にブラジキニンは、損傷を受けた組織中に痛みを生じさせるために十分な濃度で存在する (Kellermeyerら、N. Engl. J. Med. 1968, 279:859)。

【0004】ブラジキニンは、動物およびヒトの皮膚に注射した場合に、炎症の4つの主要な症候 (赤化、膨張、熱および痛み) ならびに白血球の累積を模倣する応答を引き出す (Marceauらの、Gen. Pharmacol. 1983, 14:209)。

【0005】アングイナにおけるブラジキニンの産生および伴われる痛みが報告されている (Kimuraら、Am. Heart J. 1973, 85:635およびStaszewska-Barczakら、Cardiovascular Res. 1976, 10:314)。協働して作用するブラジキニンおよびプロスタグランジンは、心筋虚血の痛みの信号を伝える感覚受容体の興奮に対して自然な刺激を与える。

【0006】キニン類は、アレルギー反応時、およびライノウイルスに誘発されるかぜの際に鼻の分泌物中に生じることが報告されている。鼻部粘膜へのブラジキニンの投与は、鼻炎の症状および喉のただれを誘発する (Proudらの、Am. Rev. Respir. Dis. 1988, 137:613)。

【0007】Lernerらは、3nM以上のブラジキニンが、骨無機質遊動化および担体退化の投与量依存的刺激を生じることが報告した。これらの知見は、リウマチ性関節炎および歯周炎の炎症領域におけるブラジキニンの生成が、関節および歯槽骨に見られる骨吸収過程に寄与するであろうことを示唆している (Lernerら、Arthritis and Rheumatism, 1987, 30:530)。

【0008】免疫反応性ブラジキニンの循環水準は、急性 (口内手術) および慢性 (リウマチ性関節炎) の炎症の臨床的モデルにおいて上昇することが報告されている。リウマチ性関節炎の患者は、対照の患者で観察されるよりも約2~3倍高いブラジキニンの循環水準を有している (Hargreavesら、Clin. Pharmacol. Ther. 1988, 44:613-621)。

【0009】StewartおよびVavrekは、87年9月15日発行の米国特許第4,693,993号および89年1月31日発行の米国特許第4,801,613号において、敗血性ショック、急性膀胱炎、遺伝性血管神経性水腫、胃切除後ダンピング症候群、癌性症候群、アナフィラキシーショック、精子運動性減退、な

らびに他の症状等の病理学的症状におけるブラジキニンの役割を記述している。ブラジキニンおよびブラジキニン関連キニン類は、刺創および咬傷の結果としても注入され得る。Stewartらの特許は、ブラジキニン拮抗薬として挙動する修飾ブラジキニン類を開示している。臨界的な修飾は、7位のL-プロリンのD-配置を有する芳香族性アミノ酸への置換に関連している。

【0010】研究者等は、有力な、長時間作用する純粋なブラジキニン拮抗薬を設計すべく長年探究してきた (Stewart, Handbook of Experimental Pharmacology, 25巻 (Suppl.) Springer Verlag, 227頁, 1979)。Vevrekらは、ブラジキニン分子の7位のプロリン残基をD-フェニルアラニン残基に置換した類似体が、中程度のブラジキニン拮抗剤であることを示した (Peptides, 1985, 6:161)。このような拮抗剤は、なおも2つの基本的な問題、すなわち8-9結合を含む数ヶ所におけるタンパク分解による急速な開裂、および肥満細胞脱顆粒の問題をはらんでいる (P. Devillierら、Eur. J. Pharmacol. 1988, 149:137)。

【0011】Gardnerらは、89年9月27日発行のヨーロッパ特許公開番号第0334244号において、Stewartらの'993特許のペプチドが、ある種の鎮痛性および抗炎症性インビボ法によるアッセイによってブラジキニン作動性または作動/拮抗混合性の活性を示すことを報告している。Gardnerらは、2位、3位のいずれか、または両者がL-酸性、L-アミド、またはL-ヒドロキシメトアミノ酸残基からなり、7位がD-芳香族性アミノ酸残基からなり、ならびに4位が好ましくはL-脂肪族性またはD-環状アミノ酸残基からなるブラジキニン類似体を示唆している。

【0012】全身性循環におけるブラジキニンの半減期は、30秒未満である (Ferreiraら、Brit. J. Pharmacol. Chemotherap. 1967, 30:417)。ブラジキニン作動薬のN-末端へのジペプチドLys-Lysの付加は、肺循環を通る経路におけるインビボ分解に対する抵抗性を改善する (Robleroら、Res. Comm. Pathol. 1973, 6:207)。

【0013】Stewartらは、それぞれ国際公開番号WO89/01780およびWO89/01781として共に1989年3月9日に発行された国際特許出願番号PCT/US88/02959およびPCT/US88/02960において、1位および9位のアルギニンの置換が、ある種のC-末端およびN-末端の延長と共に、酵素抵抗性、拮抗能力および特異性を増加させることを報告している。

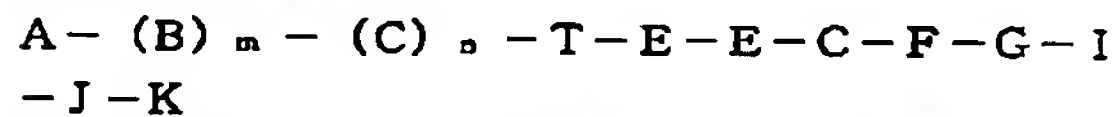
【0014】加うるに、Breipohlらは、7位に

D-Tic、および8位にProまたはOic等の置換を有する構造をもった有力なブラジキニン拮抗薬を報告している (Peptidergic Receptor s and Peptide Processing a s Therapeutic Targets, Nic e, Trance, 4月 8-11, 1990)。報告された最適化合物は、D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-Tic-Oic-Ar gであり、Hoe 140と命名されている。

【0015】これらの開示および本出願明細書中に引用するすべての他の文献をここに参考として組入れる。高い能力および良好なタンパク分解抵抗性を有すると共に、肥満細胞脱顆粒によるヒスタミン放出の誘導傾向が小さいブラジキニン拮抗薬を提供することが、この発明の目的である。

【0016】発明の要約

本発明は、一般式：



式中：Aは、H、アシルまたはグリコシルであり；Bは、D-Arg、Arg (R₁)、D-Arg (R₁)、hArg (R₁)、D-hArg (R₁)、Arg (R₁, R₂)、D-Arg (R₁, R₂)、hArg (R₁, R₂) または D-hArg (R₁, R₂) であり、ここでR₁はアルキルもしくはフルオロアルキル、およびR₂はシアノ、アルキルもしくはフルオロアルキルであり；Cは、β-Ala、Glyもしくはアザ-Glyであり；Tは、ArgもしくはBであり；Eは、HypもしくはProであり；Fは、Nal (1)、Nal (2)、Phe、Phe (Cl)、Ph e (F_s)、Thi、Trp、もしくはTyr (OM e) であり；Gは、Gly、D-Phe、Ser、もしくはD-Thiであり；Iは、D-Ala、D-Di c、D-Hyp、D-Nal (1)、D-Nal (2)、D-Ohc、D-Oic、D-Pal (3)、D-Phe、D-Phe (Cl)、D-Pip、D-P ro、D-Thi、D-Thp、D-Tic、D-Tr p、D-Tyr、D-Tyr (Me)、D-αMeNa l (2)、D-αMePhe、もしくはD-αMePh e (Cl) であり；Jは、Dic、Hyp、Nal (1)、Nal (2)、Ohc、Oic、Phe、Ph e (F_s)、Phe (Cl)、Pip、Pro、Th i、Thp、Tic、Tyr (Me)、Tyr (E t)、αMeNal (2)、αMePheもしくはαM ePhe (Cl) であり；Kは、ArgもしくはBであり；mは、1、2、3、4もしくは5であり；およびnは、0、1もしくは2である；を有する化合物またはその医薬的に許容される塩を含むものである。

アミノ酸残基

デカヒドロイソキノリン-3-カルボン酸

略号

Dic

【0017】本発明は、医薬的に許容される塩を含んで該発明化合物の製造方法をも包含する。該方法は、保護基、および存在する場合には共有的に結合する固体担体を、保護ポリペプチドから脱離させて該化合物を産生させるか、場合により、次いでイオン交換またはクロマトグラフィによりそれらの医薬的に許容される塩を産生させることを含む。更に本発明は、個体の治療用組成物を包含し、該医薬組成物は、該発明化合物の有効量、および適合する医薬的担体を含んでなる。

【0018】本発明の化合物の主な特徴は、ブラジキニン構造中へのアルキル化およびフルオロアルキル化アルギニン類似体の組込みであり、これによって酵素的分解を阻害し、肥満細胞脱顆粒によるヒスタミン放出の誘発をなくし、さらに化合物の体内への貯留を起こさせて作用持続時間を増大させている。これらの利点は、知られているアッセイ法、特にインビボアッセイにおける改善された挙動によって明らかにされ、ここで本発明の化合物は、高い能力と良好な安定性を示す。

【0019】発明の詳細な記述

略号および定義

本発明の記述およびクレームにおける便宜を計るために、種々の一般的アミノ酸について慣用の略号を使用する (ペプチド分野において一般に受け入れられ、かつB i o c h e m. J. 1984, 219: 345の生物学的命名法においてIUPAC-IUB委員会により勧められているとおりである)。ここにおいて開示され、および/またはクレームされるすべてのペプチド配列は、N-末端アミノ酸が左側に、またC-末端アミノ酸が右側にある一般に受け入れられた慣用法に従って書かれている。

【0020】ここにおいてカイラル性アミノ酸に対する略号は、該アミノ酸がD-またはD、L-として命名されていない限りL-アミノ酸を示している。ある種のアミノ酸は、天然 (例えばグリシン) および非天然の両者において非カイラル性である。

【0021】置換されたアミノ酸は、括弧内に置換基を伴った適切な母体アミノ酸として、または3文字コードにより示されている。例えば：Arg (R₁) およびhArg (R₁) は、グアニジノ部分のω-窒素上にR₁置換基を有するアルギニンおよびホモアルギニンをそれぞれ示す。また、Arg (R₁, R₂) およびhArg (R₁, R₂) は、グアニジノ部分のω-窒素上にR₁置換基を、かつのω'-窒素上にR₂置換基を有するアルギニンおよびホモアルギニンをそれぞれ示す。

【0022】非天然アミノ酸の特異的な略号は、本発明の記述に便利である。代表的な非天然アミノ酸は、以下を含む：

ヒドラジンカルボン酸 (アザグリシン)	アザ-Gly
4-ヒドロキシプロリン	Hyp
3-(1-ナフチル)アラニル	Na1 (1)
3-(2-ナフチル)アラニル	Na1 (2)
オクタヒドロシクロペンタ [b] ピロール -2-カルボン酸	Ohc
オクタヒドロインドール-2-カルボン酸	Oic
3-(p-クロロフェニル)アラニル	Phe (Cl)
3-(p-フルオロフェニル)アラニル	Phe (F)
3-(ペンタフルオロフェニル)アラニル	Phe (F ₅)
ピペリジン-2-カルボン酸 (2-ピペコール酸)	Pip
3-(2-チエニル)アラニン	Thi
テトラヒドロチアゾール-4-カルボン酸 (4-チアプロリン)	Thp
1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリ ン-3-カルボン酸	Tic
O-メチルチロシン	Tyr (OMe)
N ^ε -エチルアルギニル	Mea, Arg (Et)
N ^ε -エチルホモアルギニル	Meh, hArg (Et)
N ^ε -プロピルホモアルギニル	Prh, hArg (Pr)
N ^ε -イソプロピルホモアルギニル	IPh, hArg (iPr)
N ^ε -ブチルホモアルギニル	Mbh, hArg (Bu)
N ^ε -ヘプチルホモアルギニル	Hha, hArg (ヘプチル)
N ^ε , N ^{ε'} -ジメチルアルギニル	Dma, Arg (Me ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジメチルホモアルギニル	Dmh, hArg (Me ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジエチルホモアルギニル	Deh, hArg (Et ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジプロピルホモアルギニル	Dph, hArg (Pr ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジイソプロピルホモアルギニル	Dih, hArg (iPr ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジヘキシルホモアルギニル	Dhh, hArg (ヘキシル ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジシクロヘキシルホモアルギ ニル	Dch, hArg (シクロヘキシル ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -エタノホモアルギニル	Eha, hArg (CH ₂) ₂
N ^ε , N ^{ε'} -プロパノホモアルギニル	Pha, hArg (CH ₂) ₃
N ^ε , N ^{ε'} -ビス-(2, 2, 2-トリフ ルオロエチル)ホモアルギニル	Bth, hArg (CH ₂ CF ₃) ₂
N ^ε ヘキシル-N ^{ε'} -メチルホモアルギ ニル	Hmh, hArg (ヘキシル, メチル)
N ^ε -ブチル-N ^{ε'} -メチルホモアルギニ ル	Bmh hArg (ブチル, メチル)
N ^ε -ブチル-N ^{ε'} -シアノホモアルギニ ル	hArg (Bu, CN)
N ^ε -ブチル-N ^{ε'} -シアノメチルホモア ルギニル	hArg (Bu, CH ₂ CN)
N ^ε , N ^{ε'} -ジイソプロピルアルギニル	Dia, Arg (iPr ₂)
N ^ε , N ^{ε'} -ジシクロヘキシルホモアルギ ニル	Dca, Arg (シクロヘキシル ₂)
N ^ε , ε'-ビス-(2, 2, 3, 3, 3 -ペンタフルオロプロピル)ホモアルギニル	Bph

N ^o - (2, 2, 3, 3, 3-ペンタフルオ ロプロピル) ホモアルギニル	Fph
N ^o - エチル-N ^o ' - (2, 2, 2-トリ -フルオロエチル) ホモアルギニル	Efh
N ^o , N ^o ' - ジエチルアルギニル	Dea
N ^o , N ^o ' - ビス- (2, 2, 2-トリフ ルオロエチル) アルギニル	Bta, Arg (CH ₂ CF ₃) ₂
N ^o - メチルアルギニル	Mar, Arg (Me)

【0023】ここに記載される非天然アミノ酸は、当業
者に周知の方法により調製され、溶液相または固相ペプ
チド合成法のいずれにおいて使用されてもよい（例え
ば、Nestorら、J. Med. Chem. 198*

* 8, 31:65)。

10 【0024】次の略号は、本発明のグリコシル化類似体
において有用な炭水化物残基を例示する。

炭水化物残基	略号
グルコース	Glc
マンノース	Mann
フコース	Fuc
ラムノース	Rham
リボース	Rib
マルトース	Malt
ラクトース	Lac
ガラクトース	Gal
アラビノース	Ara
ソルビトール	Sorb
ガラクトチトール	Galol
ミオ-イノシトール	Ino
N-アセチルグルコサミン	Glc-NHAc
N-アセチルガラクトサミン	Gal-NHAc

【0025】ここにおいて使用される“医薬的に許容さ
れる塩”なる用語は、母化合物の所望の生物学的活性を
保持し、かつ望まぬ毒性効果を何ら与えない塩類
をさす。このような塩類の例は：

(a) 例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝
酸等の無機酸と形成される、および、例えば酢酸、オキ
サル酸、酒石酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、
グルコン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安
息香酸、タンニン酸、パモイン酸 (pamoic ac
id)、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンス
ルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、ポリガラクトツロ
ン酸等の有機酸と形成される酸付加塩；

(b) 亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグ
ネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カ
ドミウム等の多価金属陽イオンと形成される、あるいは
N, N' - ジベンジルエチレン-ジアミンまたはエチレ
ンジアミン等から形成される有機陽イオンと形成される
塩基付加塩；または

(c) 例えば、タンニン酸亜鉛塩等、(a) および
(b) の組合せである。

【0026】“アルキル”なる用語は、1～8個の炭素
原子を有する直鎖または分枝鎖の飽和炭化水素基を意味
する。このようなアルキル基の例は、非限定的な意味

30

40

50

で、括弧内の対応する略号と共に、メチル (Me)、エ
チル (Et)、n-プロピル (Pr)、イソプロピル
(iPr)、ブチル (Bu)、イソブチル (iBu)、
sec-ブチル (sBu)、tert-ブチル (tB
u)、ペンチル (Pe)、ヘキシル (He)、シアノメ
チルまたは、5～8員の分枝鎖基等を含んでいる。

【0027】“フルオロアルキル”は、1～5個のフッ
素原子により置換された“アルキル”、例えばCF
₃ -、CF₃CH₂ -、CF₃CF₂CH₂ -等を意味
する。“阻害基”は、プロテアーゼによるペプチドのN
-末端分解を阻止する部分である。阻害基は、典型的に
はアシルまたはグリコシル基である。“アシル”は、カル
ボン酸からヒドロキシル基の脱離により誘導される有
機基を意味する。一般的には、アシル基は末端アミノ酸
残基にアミンの窒素において結合する。

【0028】“N-Ac”は、N-アセチル保護基、す
なわち一般的に受け入れられた命名に従って、末端アミ
ノ酸残基のアミン窒素に結合するアセチル基を特定の
に意味する。“グリコシル”は、炭水化物修飾であるがペ
プチドに結合しているものを広義に意味する。この定義
に含まれるものは、グリコール酸のアルコール官能基と
糖残基との縮合により得られる1-O-グリコシルグリ
コール酸（例えば、O-β-D-グルコシルオキシ酢

酸、すなわち β -D-gluc-O-CH₂CO₂H) である。アシル阻害基も Ac-Ser (O-グリコシル) または Ac-Thr (O-グリコシル) 誘導体であってよい。該アシル結合は、チオ尿素または尿素官能基を介してもよい。アミンを、ここでケトグリコシルと称する還元糖と加熱して得られるアマドリ転移生成物、ケトース構造等も含まれる。

【0029】好ましい態様

本発明の好ましい化合物は：

Aが、H、アセチル、もしくはグリコシルであり；

mが、1；nが、0であり；

Bが、D-Arg、hArg(R₁, R₂)、D-hArg(R₁, R₂)、Arg(R₁, R₂)、もしくはD-Arg(R₁, R₂)であり；

Cが、Glyであり；

Tが、Arg、Arg(R₁)もしくはArg(R₁, R₂)であり；

Eが、HypもしくはProであり；

Fが、Thi、Phe、Phe(F₅)、Nal(2)

1. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me)；
2. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me)；
3. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me)；
4. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)；
5. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Nal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)；
6. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me)；
7. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me)；
8. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me)；
9. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)；
10. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me)；
11. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)；

もしくはPhe(Cl)であり；

Gが、Serであり；

Iが、D-Phe、D-Phe(Cl)もしくはD-Ticであり；

Jが、Phe、Pro、Oic、Thi、Tyr(Me)、Tyr(Et)、Phe(Clz pTic)もしくはPhe(F₅)であり；ならびに、

z bが、Arg、Arg(R₁)もしくはArg(R₁, R₂)であり；

10 ここにおいてR₁ およびR₂ は、独立してMe、Et、もしくはCH₂CF₃である、化合物である。

更に好ましい化合物は：

Aが、Hもしくはアセチルであり；

R₁ およびR₂ が独立してMeもしくはCH₂CF₃であり；ならびに、Fが、Phe、Phe(Cl)もしくはThiである、化合物である。

【0030】好ましい化合物の特定の例は、以下の化合物を包含する：化合物番号

12. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
13. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
14. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
15. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
16. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
17. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
18. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
19. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
20. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
21. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
22. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
23. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
24. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
25. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
26. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
27. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
28. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
29. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
30. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
31. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
32. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);

17

18

33. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
34. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Dic-Arg(Me);
35. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
36. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
37. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
38. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
39. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
40. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
41. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
42. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
43. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
44. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
45. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
46. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Dic-Arg(Me);
47. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
48. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
49. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
50. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
51. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
52. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
54. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
55. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
56. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);

57. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
58. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)}$;
59. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me)}$;
60. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)}$;
61. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
62. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me)}$;
63. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me)}$;
64. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F}_5\text{)-Ser-D-Phe-Phe(F}_5\text{)-Arg(Me)}$;
65. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
66. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Nal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
67. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me)}$;
68. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
69. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
70. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)}$;
71. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me)}$;
72. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)}$;
73. $\text{Ac-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
74. $\text{D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)}$;
75. $\text{D-hArg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Pro-Arg}$;
76. $\text{D-hArg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Et)-Arg(Me)}$;
77. $\text{D-hArg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)}$;
78. $\text{D-hArg(Et}_2\text{)-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe(F}_5\text{)-Arg(Me)}$;
79. $\text{D-hArg(Et}_2\text{)-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Pro-Arg(Me)}$;
80. $\text{Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me}_2\text{)}$;
81. $\text{D-hArg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2\text{-Arg(Me}_2\text{)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me}_2\text{)}$;

21

22

82. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me₂);
 83. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tic-Arg(Me₂);
 84. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg;
 85. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me₂);
 86. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg;
 87. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg;
 88. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg.
 89. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂);
 90. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Et)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂);
 91. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Hp).

上記のすべての態様において、該化合物は医薬的に許容される塩として調製されてもよい。

【0031】用途およびアッセイ方法

本発明のブラジキニン拮抗薬の治療的使用は、ブラジキニンにより媒介されるか、またはブラジキニンの過剰産生により悪化することが知られている病的症状を含む。これらは、関節炎、ぜんそく、アレルギー、狭心症、歯周疾患、鼻炎（ウイルス性およびアレルギー性）、傷、やけどおよび発疹に伴う炎症および痛みを含む。ブラジキニン拮抗薬は、炎症性腸疾患に特徴的な痛みおよび分泌性下痢に加え、ぜんそくにおける初期相および後期相の気管支収縮に対して寄与するブラジキニンの過剰産生の調節について有用である。種々のショック状態（例えばアナフィラキシーショック、敗血性ショック、成人呼吸困難症）においてブラジキニンにより媒介されるひどい血管拡張および血管透過性は、ブラジキニン拮抗薬によって低減されるか、もしくは防止される。ACEインヒビターを用いた抗高血圧治療に伴う持続性の乾いたせき（多分、ブラジキニンの上昇した高い濃度の結果であろう）は、ブラジキニン拮抗薬により治療され得る。

【0032】ブラジキニン拮抗薬活性を測定するために使用する生物学的アッセイは、この分野で知られたものであって、例えばモルモット回腸受容体結合アッセイ、およびラットにおける動脈内ブラジキニン誘導低血圧拮抗性を含む。血漿中（マウス、ラットまたはヒト）における代謝的安定性は、HPLCに基づくアッセイを用いて測定された。肥満細胞脱顆粒は、ラット腹膜肥満細胞との培養により評価した。

【0033】投与

本発明の実施において、本発明の化合物の有効量またはその医薬組成物が、このような治療が必要な、または要求している患者に対して投与される。これらの化合物または組成物は、経口的、非経口的（皮下的、動脈内的、筋肉内的および静脈内的投与を含む）、直腸的、頰側の

（舌下を含む）、経皮的または鼻腔内的投与を含め、特定の使用に依存して種々の経路により投与され得る。いかなる場合においても、最も好ましい経路は、用途、特定の活性成分、および関与する患者に依存する。化合物または組成物は、ここに詳細に記述されるように、徐放、貯留用埋設体または注射用剤型的手段により投与され得る。

【0034】本発明において記述されている使用について、一般的には活性成分を約0.1と100μg/kg体重の間、最も好ましくは約0.1~30μg/kg体重の量をもって投与することが都合良い。ヒトの治療については、該活性成分は好ましくは約0.1から約20~50μg/kg/日の範囲で投与されるであろう。この投与は、単一の投与により、また数回の適用にわたって分配して、あるいは徐放により、最も効果的な結果を達成するように行なわれる。単一回投与量として投与される場合には、投与は最も好ましくは約0.1~10μg/kgの範囲であろう。

【0035】これらの化合物および組成物の投与のための正確な投与量および養生法は、治療される個々の患者の要求、治療の型式、および苦悩または必要性の程度に必然的に依存する。一般に、非経口投与は、吸収により大きく依存する他の投与方法より少ない投与量を必要とする。

【0036】本発明の更に他の面は、本発明の化合物を活性成分として、医薬的に許容される非毒性の担体との混合物の形態で含む医薬組成物に関する。上述したように、このような組成物は、非経口的（皮下的、動脈内的、筋肉内的または静脈内的）投与に使用するため、特に液体の溶液もしくは懸濁液の形態において；または経口的もしくは頰側の、特に錠剤、カプセルの形態において；または鼻腔内的、特に粉末、点鼻液（nasal drops）またはエアロゾルの形態で調製されてもよい。

【0037】該組成物は、単位投与形態にて便利に投与することもでき、また医薬分野において周知のいずれの方法、例えば Remington's Pharmaceutical Sciences 17版、Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985に記載されている方法によって調製することができる。非経口投与用の剤型は、通常の賦形剤として滅菌水もしくは食塩水、プロピレングリコール等のアルキレングリコール類、ポリエチレングリコール等のポリアルキレングリコール類、野菜油、水素添加ナフタレン類等を含んでよい。経口投与用としては、剤型を胆汁酸塩の添加、およびアシルカルニチン類の添加により増強することができる (Am. J. Physiol. 251:332 (1986))。経鼻投与用の剤型は、固形であって賦形剤として例えばラクトースもしくはデキストランを含むか、あるいは点鼻液もしくは計量スプレイの形で投与される水性もしくは油性溶液であってよい。頬側投与のためには、典型的賦形剤は、糖類、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、プレゼラチン化デンプン等を含む。

【0038】経鼻投与用に調剤される場合、鼻粘膜を通しての吸収は、界面活性の酸、例えばグリココール酸、コール酸、タウロコール酸、エトコール酸、デスオキシコール酸、ケノデスオキシコール酸、デヒドロコール酸、グリコデオキシコール酸等によって増強される (B. H. Vickeryの "LHRH and Its Analogs-Contraception and Therapeutic Applications", Pt. 2, B. H. VickeryおよびJ. J. Nestor編、MTP Press, Lancaster, UK, 1987参照)。

【0039】1種以上の界面活性の酸または塩、好ましくは単一の医薬的に許容される酸の塩を本発明の化合物に添加することができる。適当な医薬的に許容される界面活性塩は、該化合物の界面活性特性に加えて増強されたペプチド吸収の現象を維持するもので、また患者に対して無害であり、あるいは禁忌でない塩類であろう。このような塩類は、例えばナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、二価鉄、亜鉛、銅、二価マンガン、アルミニウム、三価鉄、三価マンガンの塩を含む無機塩基から誘導される塩である。特に好ましくは、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウムおよびマグネシウム塩である。医薬的に許容される有機性の非毒性塩基から誘導される塩類は、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、2-ジエチルアミノエタノール、トロメトアミン、ジシクロヘキシルアミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、ヒドラバミン、コリン、ペタイン、エ

チレンジアミン、グルコサミン、メチルグルカミン、テオプロミン、プリン類、ピペラジン、ピペリジン、N-エチルピペリジン、ポリアミンレジン等の、天然産生置換アミン類、環状アミン類、および塩基性イオン交換樹脂を含む第一、第二、第三アミン類および置換アミン類の塩類を含む。特に好ましい有機非毒性塩基は、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、エタノールアミン、トロメトアミン、ジシクロヘキシルアミン、コリンおよびカフェインである。

10 【0040】本発明の実施において使用される界面活性剤の量は、ペプチド吸収をある程度増大させるであろう他の界面活性剤類のものを越えてプラジキニン類似体の吸収を増加させる量であろう。そのような量は、しばしば溶液に対して重量で0.2~15%の範囲内、更に普通には0.2~5%であることが見出された。該界面活性剤は、重量で約0.5~4%の量で存在することが好ましく、都合良くは重量で1%、好ましくは重量で約2%である。

20 【0041】本発明の化合物を、患者に対して長期間にわたって、例えば単一投与により1週間から1年間の期間にわたって与えることが望ましい。種々の徐放、貯留埋設体または注射可能な投与形態が使用可能である。例えば、投与形態は、体液への溶解度が低い医薬的に許容される該化合物の非毒性塩、例えば (a) リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、パモイン酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンモノ-もしくはジ-スルホン酸、ポリガラクトロン酸等の多塩基酸との酸付加塩、(b) 亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カドミウム等の多価金属陽イオン、または例えば N, N'-ジベンジルエチレンジアミンもしくはエチレンジアミン等が形成される有機陽イオンとの塩、あるいは (c) 例えばタンニン酸亜鉛等の (a) と (b) との組合せを含むことができる。更に、本発明の化合物または好ましくはそれらの前述した比較的難溶性の塩は、ゲル中、例えばモノステアリン酸アルミニウム中にゴマ油と共に製剤化され、注射に適したものとすることもできる。特に好ましい塩は、亜鉛塩、タンニン酸亜鉛塩、パモエート塩等である。注射または埋設のための他の型式の徐放性貯留剤型は、徐々に崩壊する非毒性の非抗原的ポリマー、例えばポリ乳酸/ポリグリコール酸ポリマー等に分散されるか、あるいはカプセル化された該化合物またはその塩を含む。該化合物または好ましくはそれらの前述した比較的難溶性の塩は、コレステロール担体ペレット中、または特に動物において使用するためにシリラストマー (silastomer) 担体埋設体中に製剤化することもできる。加うるに、徐放性、貯留埋設体または注射可能な剤型は、例えばリポソーム等、文献にて周知である。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Del

lvery Systems, J. R. Robinson 編, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978 参照。

【0042】ペプチドの合成

本発明の化合物は、ペプチド技術の当業者に公知の任意の技術により合成され得る。利用可能な多くの技術は、固相ペプチド合成については J. M. Stewart および J. D. Young の solid Phase Peptide Synthesis 2nd edit., Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois, 1984 ならびに J. Meilenhofer の Hormonal Proteins and Peptides, 2 巻, 46 頁, Academic Press (New York) 1973 に見出せ、また古典的液相合成は、E. Schroder および K. Lubke の The Peptides, 1 巻, Academic Press (New York) 1965 に見出される。

【0043】一般にこれらの方法は、成長するペプチド鎖への 1 個以上のアミノ酸または好適には保護アミノ酸の連続的付加に関連する。通常は、第 1 のアミノ酸のアミノまたはカルボキシル基のいずれかが適当な保護基により保護される。次いで、保護された、または誘導されたアミノ酸は、不活性固体に結合されるか、あるいは溶液中にて使用され、アミド結合を形成するために好適な条件下で好ましくは保護された相補的な（アミノまたはカルボキシル）基を有する配列における次のアミノ酸が付加される。次いで、この新たに付加されたアミノ酸残基から保護基が除去され、次いで次のアミノ酸（適切に保護されている）が加えられ、これが繰返される。最終的に、所望のアミノ酸が適切な配列をもって連結され、残る保護基（および固体支持体）が連続して、または同時に除去され、ポリペプチドの粗製形態が産生される。最後に該ポリペプチドは脱塩され、クロマトグラフィ的に精製されて最終生成物が得られる。

【0044】ここに記載される非天然産生アミノ酸は、当業者に周知の方法により調製され、液相または固相ペプチド合成方法のいずれかにおいて使用される。

【0045】合成の好ましい態様

本発明の化合物の合成の好ましい方法は、固相ペプチド合成に関連する。この好ましい方法において、アミノ酸の α -アミノ官能基は、酸-または塩基-感受性基により保護される。このような保護基は、ペプチド結合形成の条件に対して安定な性質を有し、その一方、成長するペプチド鎖の分解および含まれるいずれのカイラル中心のラセミ化を伴うことなく容易に除去されなければならない。好適な保護基は、*t*-ブチルオキシカルボニル (Boc)、ベンジルオキシカルボニル (Z)、*o*-クロロベンジルオキシカルボニル (Cl-Z)、ピフェニルイソプロピルオキシカルボニル、*t*-アミルオキシカ

ルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、 α , α -ジメチル-3, 5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、*o*-ニトロフェニルスルフェニル、2-シアノ-*t*-ブチルオキシカルボニル、9-フルオルエニルメチルオキシカルボニル (Fmoc) 等であり、特に *t*-ブチルオキシカルボニル (Boc) である。

【0046】特に好ましい側鎖保護基は、チロシンに対しては、ベンジル (Bzl)、*o*-プロモベンジルオキシカルボニル、2, 6-ジクロロベンジル、イソプロピル、シクロヘキシル、シクロペンチルおよびアセチルであり；セリンに対しては、ベンジルおよびテトラヒドロピラニルであり；トリプトファンに対しては、 N^1 - N -フォルミルまたは保護なしである。

【0047】C-末端アミノ酸は、適当な固体支持体に結合される。上記合成において有用な好適な固体支持体は、段階的な縮合-脱保護反応の試薬および反応条件に対して不活性であり、加えて使用される媒体に不溶性であるような物質である。好適な固体支持体は、クロロメチルポリスチレン-ジビニルベンゼンポリマー、ヒドロキシメチル-ポリスチレン-ジビニルベンゼンポリマー等、特にクロロメチル-ポリスチレン-1%ジビニルベンゼンポリマーである。クロロメチルポリスチレン-ジビニルベンゼン型樹脂への結合は、エタノール、アセトニトリル、*N*, *N*-ジメチルホルムアミド (DMF) 等の中の、セシウム、テトラメチルアンモニウム、トリエチルアンモニウム、1, 5-ジアザビシクロ [5.4.0]ウンデカ-5-エンの塩または類似する塩、特に DMF 中のセシウム塩としての N^{α} -保護アミノ酸、特に Boc-アミノ酸と、クロロメチル樹脂との、昇温下、例えば約 40~60℃の間、好ましくは約 50℃における約 12~48 時間、好ましくは約 24 時間の反応によって行なわれる。続く保護アミノ酸の結合は、この技術分野で周知の自動ポリペプチド合成装置において行なわれ得る。

【0048】 N^{α} -保護基の除去は、例えばメチレンクロライド中のトリフルオロ酢酸、ジオキサン中の塩化水素、酢酸中の塩化水素、1-PrOH 中の塩化水素等の溶液、または他の強酸溶液、好ましくはジクロロメタン中の 50%トリフルオロ酢酸 (TFA) の存在下に、約周囲温度にて行なわれる。トリエチルアミンまたは類似する塩基による中和に引続き、各保護アミノ酸が好ましくは 2.5 モル過剰量をもって導入され、結合が、ジクロロメタン、ジクロロメタン/DMF 混合物、DMF 等、特にメチレンクロライド中にて約周囲温度において行なわれる。結合剤は、通常、ジクロロメタン中の *N*, *N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) であるが、*N*, *N'*-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC) または他のカルボジイミドの単独あるいは 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HBT)、*N*-ヒドロキスクシニイミド、他の *N*-ヒドロキシイミド類ま

たはオキシム類の存在下であってもよい。別法として、保護アミノ酸活性エステル（例えばp-ニトロフェニル、ペンタフルオロフェニル等）または対称的な無水物を用いることもできる。

【0049】固相合成の最後において、完全に保護されたポリペプチドが樹脂から脱離される。遊離の-COOHカルボキシ末端（C-末端）を有するペプチドは、HFまたは他の強酸的脱保護、あるいはケン化によって得られる。別法として、ペプチドは、樹脂から例えばメタノールを用いたトランスエステル化および引き続くケン化によっての脱離させ得る。この時点で保護ペプチドをシリカゲルクロマトグラフィにより精製してもよい。該ポリペプチドからの側鎖保護基の除去は、該生成物を、例えばアニソールまたは他のカルボニウム除去剤の存在下に無水液体フッ化水素で処理することにより、またはトリス（トリフルオロアセチル）ボロンおよびトリフルオロ酢酸による処理、または水素およびパラジウムによる炭素もしくはポリビニルピロリドン上の還元により、または液体アンモニウム中のナトリウムによる還元、好ましくは液体フッ化水素およびアニソールによる還元により、約-10〜+10℃の間、好ましくは約0℃の温度にて、約15分間〜約2時間、好ましくは約1時間処理することで行なわれる。該溶液は脱塩され（例えばBiol Red AG-3陰イオン交換樹脂）、次の型のいずれか、もしくはすべてを用いたクロマトグラフィ的工程の序列により精製される：アセテート型の弱塩基性樹脂上のイオン交換；非誘導ポリスチレン-ジビニルベンゼン（例えばアンバーライトXAD）上の疎水性吸着クロマトグラフィ；シリカゲル吸着クロマトグラフィ；カルボキシメチルセルロース上のイオン交換クロマトグラフィ；例えばセファデックスG-25上の分配クロマトグラフィまたは逆流分布；高速液体クロマトグラフィ（HPLC）、特にオクチルもしくはオクタデシルシリル-シリカ結合相カラム充填剤上の逆相HPLC。

【0050】N-ケトグリコシル、O-グリコシルセリンのアシル化された誘導体、およびグリコシルオキシアセチルのブロックされた誘導体の調製方法は、当業者に周知である（例えば、その開示をここに参考として組入れる特許出願番号PCT/EP87/00593（国際公開番号W088/02756）およびその参考文献を参照）。

【0051】本発明は、更に他の局面において本発明の化合物およびその医薬的に許容される塩の製造方法に関連し、この方法は：保護基、および場合により共有的に結合する固体支持体を保護ポリペプチドから除去して先に開示した式の化合物またはその医薬的に許容される塩を生成することを含んでなり、ここにおいて該化合物は、N^α-アルキル化またはフルオロアルキル化Arg残基を含むブラジキニン拮抗薬を含んでなるものである。

【例】

【0052】以下の例は、例示的なものであって本発明を限定するものではない。非天然産生アミノ酸のhArg（R₁）類合成の合成経路についての一般的例は、NestorらのJ. Med. Chem.、1988、31：65および1987年5月19日発行の米国特許第4,667,014号に与えられており、両者をここに参考として組み入れる。

【0053】調製A

10 N^α-t-ブチルオキシカルボニル-N^ε-メチル-アルギニン [Boc-Arg(Me)-OH]

A. S-メチル N-メチルイソチオウロニウムヒドロアイオダイド塩 (1) 0-5℃に冷却したメタノール (250 mL) 中の1-メチル-2-チオ尿素 (50 g、0.55 mol) の溶液に、ヨウ化メチル (34.6 mL、0.55 mol) を滴々加えた。添加完了後、該溶液を70℃にて1時間加熱した。該溶液を~100 mLまで濃縮した。該濃縮溶液に200 mLのEt₂Oを加えた。該溶液を冷却すると固形物が現れた。該固形物をろ別し、エーテルにて洗浄し、真空下に乾燥させて生成物を120 g (収率94%) の白色固体を得た。

20 【0054】B. オルニチンハイドロクロライド (8.4 g、50 mmol) に、2N NaOHをpH 10.65±0.05となるまで加えた。激しく攪拌している該溶液に、1 (18.56 g、80 mmol) を4N NaOHに溶解せしめCH₂Cl₂にて抽出して得たCH₂Cl₂中のS-メチル N-メチルイソチオ尿素溶液を、60℃にて滴々加えた。正の窒素圧を維持して発生するメルカプタンをNaOClトラップ中に吹き込んだ。水酸化ナトリウムの濃溶液の添加により、pH (10.65±0.05) を維持した。添加完了後、該溶液をpH 10.65、室温にて一夜攪拌した。該反応は、一夜にて80%完結した（アミノ酸分析による）。該反応混合物を酢酸エチルで抽出してメチル尿素を除去した。該水溶液を0℃に冷却し、100 mLのジオキサンを添加し、そして25 mL中のジ-*t*-ブチルジカルボネート (14.17 g、65 mmol) を滴々加えた。該混合物を、必要に応じて2N NaOHの添加によりpHを10.00に保ちつつ室温にて一夜攪拌した。該溶液を、ジオキサン除去のために半分の体積まで蒸発させた。該水溶液を酢酸エチルにて抽出し、0℃にて1N HClによりpH 6.5まで酸性化し、再度酢酸エチルにて抽出した。水性相を濃縮し、残渣をEtOH中に溶解させた。該溶液にシリカゲル (50 g) を加え、蒸発させて乾燥させた。該固形分を、CH₃CN中で充填された450 gのシリカゲルカラムに加え、2 LのCH₃CN、次いで2 LのCH₃CN/H₂O (9/1) を用いて溶出させた。純粋なBoc-Arg(Me)-OHを含む分画を合せ、蒸発させ、エーテルによ

30

40

50 りすり碎き、真空下に乾燥させた。生成物は、3.1 g

のガラス状物として得られた(収率22%; mp 99-101°C;

$[\alpha]_D^{25} -4.88^\circ$ (HOAc中1.2%にて)。

【0055】調製B

N α -t-ブチルオキシカルボニル-N $^\epsilon$, N $^\epsilon$ '-ジメチルアルギニン(Boc-Arg(Me $_2$)-OH)

同様な方法によって、オルニチンヒドロクロライド(51g, 0.3mol)をS-メチルN, N'-ジメチルイソチオウロニウムハイトロアイオダイド塩(123g, 0.49mol)との反応によってArg(Me $_2$)-OHに交換した。Arg(Me $_2$)-OHは単離しなかった。該反応混合物を、ジ- α -ブチル- γ -カルボネート(70.8g, 0.325mol)と反応させ、次いでシリカゲルカラムでの精製によりBoc-Arg(Me $_2$)-OH(56.8g, 収率62%)を得た。

【0056】調製C

N $^\alpha$ -t-ブチルオキシカルボニル-N $^\epsilon$, N $^\epsilon$ '-ビス-(2, 2, 2-トリフルオロエチル)-D-ホモアルギニン[Boc-D-hArg(CH $_2$ CF $_3$) $_2$ -OH]

A. ビス(トリフルオロエチル)-チオ尿素

0-5°Cに冷却された重炭酸ナトリウム(37.8g, 450mmol)およびチオホスゲン(8.5g, 74mmol)を含む激しく攪拌されているジクロロメタン溶液に、120mLの水中のトリフルオロエチレンジアミンヒドロクロライド(20g, 148mmol)の溶液を加えた。該反応混合物を、0°Cにて2時間および室温にて一夜攪拌した。固形分をろ別し、水およびエーテルにて洗浄し、真空下で乾燥させた。生成物は、14gの固体(収率70%)として得られた。

【0057】B. N $^\alpha$ -Boc-N $^\epsilon$ -Z-D-リジンメチルエステル

250mLのDMF中のN $^\alpha$ -Boc-N $^\epsilon$ -D-リジン(100g, 263mmol)およびNaHCO $_3$ (44.0g, 523mmol)の懸濁物に、N $_2$ 雰囲気下でヨウ化メチル(33mL, 530mmol)を5-10分間で加えた。該反応混合物を室温にて36時間攪拌し、次いで水(1000mL)および酢酸イソプロピル(700mL)の混合物中に注入した。層を分離させた。有機層を水および食塩水にて洗浄し、無水N $^\alpha$ -SO $_4$ にて乾燥させた。該溶液をろ過し、真空下で乾燥させて油状物(107g, 収率100%)を得た。

【0058】C. N $^\alpha$ -Boc-D-リジンメチルエステルヒドロクロライド

H $_2$ 導入部(溶液下)、温度計および高架攪拌器を装着した2リットルの3首丸底フラスコ中に、メタノール(1000mL)中のN $^\alpha$ -Boc-N $^\epsilon$ -Z-D-リジンメタノールエステル(103g, 261mmol)を入れた。該溶液を脱気した。該溶液に10%Pd

(C)(20g)を加え、次いで3-4時間、H $_2$ ガスをバブリングした。該溶液をCelite(登録商標)にてろ過し、メタノールで洗浄し、そしてHCl/酢酸エチル溶液を用いてpH4.0に調節した。該溶液を真空下で蒸発させて生成物を76g(収率96%)の淡黄色油状物として得た。

【0059】D. Boc-D-hArg(CH $_2$ CF $_3$) $_2$ -2-OH

CH $_3$ CN(720mL)中のN $^\alpha$ -Boc-D-リジンメチルエステルヒドロクロライド(72.0g, 243mmol)の溶液中に、トリエチルアミン(73.5g, 727mmol)、ビス-トリフルオロエチルチオ尿素(70.8g, 290mmol)およびHgCl $_2$ (79.0g, 290mmol)を室温にて添加した。該反応混合物を12時間還流させて濃い黒色溶液を得た。該反応混合物を冷却し、溶液のpHをトリエチルアミンを用いて9に調節した。該反応混合物をCelite(登録商標)にてろ過し、CH $_3$ CNで洗浄し、2NHClにてpH7.0に調節した。該溶液を真空下で蒸発させ、油状物を得た。該油状物をメタノール(1L)中に再度溶解させ、1NのNaOHを用いてpH11.4で加水分解した。加水分解完了後、該溶液をpH4に調整し、乾燥まで濃縮した。得られた残渣を酢酸イソプロピル(1.0L)および水(0.5L)に溶解させた。水性層をCelite(登録商標)上でろ過し、真空下で濃縮し、1NのNaOHを用いてpH6.5に調節した。該溶液を冷却して固形物を生じた。該固形物をろ別し、真空下で乾燥させて生成物を50g(収率46%)の固体として得た。

【0060】調製D

N $^\alpha$ -t-ブチルオキシカルボニル-N $^\epsilon$, N $^\epsilon$ '-ビス-(2, 2, 2-トリフルオロエチル)-D-ホモアルギニンヒドロクロライド[Boc-D-hArg(CH $_2$ CF $_3$) $_2$ -Cl]を以下のように調製した: 50mLのCH $_3$ CNおよび50mLのTHF中の、7.33gのベンジル-N $^\alpha$ -ベンジルオキシカルボニル-D-リジネートトルエンスルホネート(B. BezusおよびL. ZervasのJ. Am. Chem. Soc. 83:719(1961))と3.60gのビス(2, 2, 2-トリフルオロエチル)チオ尿素(M. UherおよびJ. Jendrichovskyの, Coll. Czech. 38:289(1973))の混合物を、2.06gのHgCl $_2$ および3.3gのトリエチルアミンにより処理した。該反応混合物を80-90°Cにて8時間加熱し、続いて20%xsのHgCl $_2$ 、トリエチルアミン、およびチオ尿素有添加した。加熱を更に15時間継続した。該反応物を室温まで冷却させ、Celite(登録商標)を通してろ過し、減圧下で濃縮して乾燥させた。残渣をシリカゲルカラム上に負荷し、CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH(19:1)からCH

31

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1) まで、次いで $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (4:1) までの勾配を用いて溶出させた。生成物を含む分画を、薄層クロマトグラフィ (TLC) により検出し、貯留し、そして濃縮して乾燥せしめて 7.6 g の黄色発泡物を得た。該発泡物を第 2 のシリカゲルカラム上で再度精製して $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1) から*

トルエンスルホネート $[\alpha]_D^{25} - 10.2^\circ$ (MeOH 中 1.5% の濃度) を

得た。

【0061】上記生成物の一部 6 g および 1 g の 10% Pd/C を 150 mL の EtOH 中で大気圧下、3 時間、水素ガスにより処理した。追加の 0.4 g の 10% *

ロエチル) -D-ホモアルギニントルエンスルホネート $[\alpha]_D^{25} - 7.76^\circ$ (

MeOH 中 0.4%) を得た。

【0062】8 mL の 1 N NaOH 中の同化合物 (1.96 g) の溶液および 8 mL のジオキサンを 160 mg の MgO および 1.05 g のジ-*t*-ブチルオキシカルボネートにより 0℃ にて処理した。該反応混合物を 0℃ にて 1 時間、次いで室温にて 3 時間攪拌した。マグネシウム塩をろ別し、ろ液を真空下で濃縮した。害塩 20 基性溶液を無水ジエチルエーテルで洗浄し、次いで 1 N *

クロライド、 $[\alpha]_D^{25} - 2.19^\circ$ (MeOH 中 0.5%) を単離した。

【0063】調製 E

Boc-Arg (Me) -O-樹脂

50 mL のエタノールおよび 10 mL の H_2O 中に Boc-Arg (Me) -OH (8.5 g、29.7 mmol) を溶解させた。該溶液を炭酸セシウムの 1.5 M 溶液の添加により pH 7.0 に調節した。該混合物を蒸発により乾燥させ、更に無水 EtOH 溶液の蒸発による乾燥を行なった (3 回反復した)。該セシウム塩を真空下で一夜乾燥させ、更に精製することなく使用した。該セシウム塩を 200 mL の DMF に溶解した。該 DMF 溶液にクロロメチルポリスチレン-1%-ジビニルベンゼン樹脂 (20 g、1.3 meq/g、26 mmol) を加え、該懸濁物を 50℃ にて 48 時間攪拌した。該樹脂をろ別し、DMF、DMF/ H_2O 混合物 (4:1)、DMF、 CH_2Cl_2 、EtOH、 CH_2Cl_2 により順次洗浄し、真空中で乾燥させた。該樹脂のアミノ酸分析は、0.275 meq/g の取込を示した。

【0064】調製 F

Boc-Arg (Me₂) -O-樹脂

同様な方法で、Boc-Arg (Me₂) -OH (4.8 g、16 mmol) およびクロロメチル樹脂 (10 g、1.3 meq/g、13 mmol) を対応する Boc-Arg (Me₂) -O-樹脂 (12.8 g、0.41 meq/g) に変換した。

【0065】例 1

式 (1) の化合物の合成

ベックマン 990 ペプチド合成装置の反応容器中に 2.

0 g (0.54 mmol) の Boc-Arg (Me) -

32

* $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (4:1) までの勾配、および $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (4:1) の等濃度により溶出させた。生成物を含む分画を TLC により検出し、貯留し、濃縮、乾燥せしめ 77.0 g のベンジル N^α-ベンジルオキシカルボニル-N^ε、N^ε'-ビス-(2, 2, 2-トリフルオロエチル)-D-ホモアルギネー

※ Pd/C を加え、水素添加を更に 3 時間継続した。該反応混合物をセライトを通してろ過し、濃縮、乾燥させて 4 g の N^ε、N^ε'-ビス-(2, 2, 2-トリフルオ

★ HCl により 0℃ にて pH 3.5 に酸性化した。生成物を該酸性水溶液から酢酸エチルにより抽出し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。該乾燥剤をろ別し、ろ液を濃縮、乾燥させて白色発泡物を得た。該発泡物を AG-3 C1-ビーズで処理して生成物を塩化物塩の形態に変換した。1.4 g の N^α-*t*-ブチルオキシカルボニル-N^ε、N^ε'-ビス-(2, 2, 2-トリフルオロエチル)-D-ホモアルギニンハイドロ

O-樹脂を置き、該樹脂に標準的合成プログラムによって保護アミノ酸を順次加えた。典型的な合成プログラムは、1987 年 5 月 19 日発行の米国特許第 4,667,014 号カラム 21 に記述されている。他の商業的に入手可能なペプチド合成装置において使用するのための同様な合成プログラムを使用することもできる。

【0066】式 I の好ましい化合物の調製のために、該樹脂に、2.0~5.0、好ましくは 2.0~2.5 モル過剰量の各保護アミノ酸、および N、N'-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC) を用いて順次結合した。該樹脂を、順次行なう結合サイクルの間、

0.40 g	Boc-Tyr (Me) -OH
0.36 g	Boc-D-Phe-OH;
0.40 g	Boc-Ser (Bzl) -OH;
0.36 g	Boc-Phe-OH;
0.24 g	Boc-Gly-OH;
0.43 g	Boc-Hyp (Bzl) -OH;
0.29 g	Boc-Pro-OH;
0.29 g	Boc-Arg (Me) -OH; および
0.61 g	Boc-D-hArg (CH ₂ CF ₃) ₂ -OH

を用いて処理した。

【0067】該保護ペプチド樹脂を反応容器から取出し、ろ過し、真空下で乾燥させて保護中間体を得た。該ペプチド樹脂の一部 2.0 g を、Kel-F 反応容器中で、2 mL のアニソール (除去剤) の存在下に 20 mL の無水液体 HF で 0℃ にて 1 時間処理し、これにより脱保護および樹脂からの脱離を行なった。HF を真空下で

蒸発させ、HF塩としてのD-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)の残渣をエーテル(2×20mL)にて洗浄し、およびH₂O(2×25mL)に溶解させた。該水溶液の凍結乾燥により粗生成物を白色粉末として得た。

【0068】該粗製ペプチドを、Vydac C₁₈充填剤(2.5×100cm; 15ミクロン)を用い、水性CF₃CO₂H(0.1%)中の適当なCH₃CNの*

[α]_D²⁵ -49.9° (H₂O中0.37%)の白色粉末として得た。

【0069】例2

式(1)の化合物の合成

ベックマン990ペプチド合成装置の反応容器中に1.0g(0.41mmol)のBoc-Arg(Me₂)-O-樹脂を置き、該樹脂に標準的合成プログラムによって保護アミノ酸を順次加えた。典型的な合成プログラムは、1987年5月19日発行の米国特許第4,667,014号カラム21に記述されている。他の商業的に入手可能なペプチド合成装置において使用するための同様な合成プログラムを使用することもできる。

【0070】式Iの好ましい化合物の調製のために、該樹脂に2.0~5.0、好ましくは2.0~2.5モル過剰量の各保護アミノ酸、およびN,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)を用いて順次結合した。

該樹脂を、順次行なう結合サイクルの間、

0.44g	Boc-Oic-OH
0.44g	Boc-D-Tic-OH;
0.48g	Boc-Ser(Bzl)-OH;
0.45g	Boc-Thi-OH;
0.29g	Boc-Gly-OH;
0.53g	Boc-Hyp(Bzl)-OH;
0.35g	Boc-Pro-OH;
0.50g	Boc-Arg(Me ₂)-OH; および
0.72g	Boc-D-hArg(CH ₂ CF ₃) ₂ -Arg(Me ₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me ₂)-OH; および

[α]_D²⁵ -53.48° (H₂O中0.27%)の白色粉末として得た。

【0073】同様の方法において、アミノ酸の適切な配列を用いて以下を得た:

1. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
2. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
3. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
4. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
5. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Nal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
6. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
7. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
8. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
9. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
10. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);

*勾配を用いて調製用高速液体クロマトグラフィにて精製した。分画を収率(UVモニタ)よりも純度のために分割し、また純度をVydac分析カラム(5ミクロン充填剤)を用いた分析用HPLCにより評価した。貯留分画を凍結乾燥して純粋な(>95%)D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me)を得た。

※F₃)2-OH

を用いて処理した。

【0071】該保護ペプチド樹脂を反応容器から取出し、ろ過し、真空中で乾燥させて保護中間体を得た。該ペプチド樹脂の一部1.5gを、Kel-F反応容器中で、1.5mLのアニソール(除去剤)の存在下に15mLの無水液体HFで0℃にて1時間処理し、これにより脱保護および樹脂からの脱離を行なった。HFを真空中で蒸発させ、HF塩としてのD-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂)の残渣をエーテル(2×20mL)にて洗浄し、およびH₂O(2×25mL)に溶解させた。該水溶液の凍結乾燥により粗生成物を白色粉末として得た。

【0072】該粗製ペプチドを、Vydac C₁₈充填剤(2.5×100cm; 15ミクロン)を用い、水性CF₃CO₂H(0.1%)中の適当なCH₃CNの勾配を用いて調製用高速液体クロマトグラフィにて精製した。分画を収率(UVモニタ)よりも純度のために分割し、また純度をVydac分析カラム(5ミクロン充填剤)を用いた分析用HPLCにより評価した。貯留分画を凍結乾燥して純粋な(>95%)D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂)を得た。

列を用いて以下を得た:

11. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
12. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
13. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
14. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
15. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
16. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
17. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
18. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
19. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
20. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
21. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
22. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
23. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
24. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
25. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
26. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
27. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
28. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
29. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
30. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
31. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
32. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
33. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
34. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
35. Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);

37

38

36. Ac-D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
37. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
38. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
39. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
40. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
41. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
42. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
43. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
44. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
45. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
46. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
47. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
48. D-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
49. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
50. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
51. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
52. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
53. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
54. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
55. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
56. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
57. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
58. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
59. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
60. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
61. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me);
62. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Phe-Thi-Arg(Me);
63. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(F₅)-Ser-D-Phe-Phe(F₅)-Arg(Me);
64. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
65. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Hal(2)-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
66. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);

39

40

67. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe-Phe(Cl)-Arg(Me);
 68. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Phe(Cl)-Tyr(Me)-Arg(Me);
 69. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
 70. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
 71. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me);
 72. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
 73. Ac-Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Tyr(Me)-Arg(Me);
 74. D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
 75. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Pro-Arg;
 76. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Et)-Arg(Me);
 77. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me);
 78. D-hArg(Et₂)-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Phe(F₃)-Arg(Me);
 79. D-hArg(Et₂)-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Pro-Arg(Me);
 80. Arg(CH₂CF₃)₂-Arg(CH₂CF₃)₂-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Tyr(Me)-Arg(Me);
 81. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂);
 82. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me₂);
 83. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Tic-Arg(Me₂);
 84. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg;
 85. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me₂);
 86. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg;
 87. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe(Cl)-Ser-D-Tic-Pro-Arg;
 88. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg.
 89. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂);
 90. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Et)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me₂);
 91. D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg(Me).

【0074】上記のすべての態様において、化合物は医薬的に許容される塩として調製してもよい。選択した化合物について $[\alpha]_D^{25}$ を水中にて測定した。

H ₂ O中の化合物	$[\alpha]_D^{25}$	濃度(重量%)
4	-42.63°	0.18%
76	-48.07°	0.28
18	-52.01°	0.37
77	-52.98°	0.3
78	-46.7°	0.14
79	-69.3°	0.3
52	-44.58°	0.2
80	-52.66°	0.14

【0075】例3

グリコシル化誘導体

N^α-β-デオキシフルクトシル-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gl 50 y-Phe-Ser-D-Phe-Phe-Arg(Me)
 A. 25mLのMeOH/HOAc(9:1)中の
 0.72gのD-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg

(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Phe-Arg (Me) の溶液を、1.8gのD-グルコースにより処理し、70℃にて3時間加熱した。該溶液を真空中での蒸発により濃縮し、MeOHにて希釈し、そして生成物をジエチルエーテルにより沈殿させた。該生成物を、シリカゲルによるクロマトグラフィにて精製した(CH₂Cl₂/MeOH/HOAc; 8:1:1)。

【0076】標記化合物を30mLのEt₂Oにより沈殿させ、遠心分離/デカンテーション(Et₂O)により洗浄し、乾燥させて白色粉末とした。精製生成物を、シリカゲルクロマトグラフィ(CH₂Cl₂/MeOH/HOAc; 7:2:1)により得た。

【0077】B. 同様な方法においてグルコースをD-(+)-マルトース、D-(+)-ガラクトース、D-リボースに置換し、対応するN^o-(α-D-グルコピラノシル-(1-4)-1-デオキシフラクトシル)、N^o-(デオキシソルボシル)またはN^o-(デオキシリブシル)類似体をそれぞれ得ることもできる。同様な方法において得られるものは、対応するN^o, N^o-ジ(デオキシフラクトシル)、N^o, N^o-ジ(デオキシソルボシル)およびN^o, N^o-ジ(デオキシリブシル)類似体である。

【0078】例4 アシル化誘導体

A. 0.8gのD-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)を3gの2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコシルイソチオシアネートを用いて25℃にて1時間処理した。粗生成物を真空中の濃縮およびEt₂Oによる粉碎によって回収した。純粋生成物を、Vydacの2.5×100cmカラムおよび10-45%CH₃CN(pH4.5におけるNH₄OAc中0.04M)の勾配を使用して逆相クロマトグラフィにより得た。同様の方法で2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコシルイソチオシアネートを置換して対応するβ-D-グルコシルカルバモイル類似体を得た。

【0079】B. 0.8gのD-hArg(CH₂CF₃)₂-Arg(Me)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Pro-Arg(Me)の溶液を0.32gの2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-O-β-D-グルコシルオキシ酢酸により2mLのDMF(この酸は、45mgのHBTおよび45mgのN,N'-ジクロロヘキシルガルボジイミドにより、あらかじめ処理されている)中で処理を行なった。25℃にて3時間後、DCUの沈殿をろ過し、25mL

化合物番号

74

75

のEt₂Oの添加により粗製中間体を沈殿させた。O-アセチル保護基を、該中間体の40mL MeOH溶液に触媒量のNaOMeを添加することにより脱離させた。生成物は、分砕および遠心分離/デカンテーション(Et₂O)によって得られうる。

【0080】例5

モルモット回腸ブラジキニン受容体結合アッセイ

ブラジキニン類似体を、InnisらのProc. Natl. Acad. Sci. USA 1981, 78:2630に記載されている無細胞膜受容体結合アッセイ法により測定した。雄のHartleyモルモット(400-500g, Charles River)を、CO₂窒息により安楽死させた。末端回腸の5cm断片を取出し、冷食塩水ですすぎ、20体積の冷却した20mM TES緩衝溶液、pH6.8, 1mM1, 10-フェナントロリン中にTissumizer(Tekmar)を使用して最大速度の75%にて12秒間でホモジナイズした。該ホモジネートを15,000xgで4℃、25分間遠心分離した。該粗製の膜ペレットを20体積の新鮮なホモジナイズ緩衝溶液で1回洗浄し、アッセイ用緩衝溶液(25mM TES緩衝溶液、pH6.8, 1mMジチオスレイトール, 1mM1, 10-フェナントロリン, 1μMカプトプリル, 0.014%バシトラシンおよび0.1%ウシ血清アルブミン)に、グラム排出(issue)あたり100mL緩衝液の割合で再懸濁させた。この膜調製物を液体窒素中で急速冷凍し、-80℃にて保存した。

【0081】受容体結合アッセイ用反応混合物は、500μlのアッセイ用緩衝溶液中に、ブラジキニン類似体(1-1000nM)、100pM [³H]ブラジキニン(88Ci/mmol)および200μlの膜調製物を含んでいた。反応物を室温にて90分間培養し、膜-結合 [³H]ブラジキニンをPEI-被覆ガラス繊維フィルタを通してろ過することにより単離した。該フィルタを乾燥させ、放射能を液体シンチレーションカウンタにより計数した。フィルタに結合した全放射能から非特異的結合(1μMの非標識ブラジキニンの存在下における並行するアッセイの組にて測定した)を差引くことにより特異的結合を計算した。すべての培養は対にて行ない、またデータは [³H]ブラジキニンの特異的結合における減少を%で表した。IC₅₀(100pM [³H]ブラジキニンの結合を50%減少させる類似体濃度)を、減少%対log濃度のプロットからグラフ的に決定した。比較のために、ブラジキニンのIC₅₀は、0.1~0.2nMである。

【0082】本発明の化合物のいくつかについてのIC₅₀値は次のとおりである。

IC₅₀ (nM)

30

1

21
81
22
91
89
90

本発明の他の化合物は、同様な IC_{50} 値を有している。

【0083】例6

インビトロの血漿安定性

ブラジキニン拮抗薬のタンパク分解抵抗性を、血漿中における類似体の半減期をHPLCを用いて測定することにより決定した。ラットの血液をヘパリンを入れた試験管中に採取し、 $2000 \times g$ にて4℃で10分間遠心分離を行なって血漿を分離した。血漿試料は、ブラジキニン類似体と共に補充され、37℃にて培養された。培養の間の種々の時間に分別量を取り出し、10%トリフルオロ酢酸(TFA)により反応を停止させた。該反応混合物を、 H_2O 中のメタノールおよび10%TFAによってあらかじめ調整した1mL C_{18} 固体相抽出カラム(Baker)に適用した。類似体を、 $3 \times 100 \mu l$ の15%アセトニトリル(CH_3CN)および0.2%TFAを含む85%の H_2O を用いて溶出させた。該溶出液をSpeed-Vac濃縮装置(Savant)にて乾燥させ、類似体に応じて種々の割合の CH_3CN および0.2%TFAを含む H_2O からなる300 μL の遊動相に再溶解させた。該試料を、Pecospher(登録商標)(Perkin-Elmer) 3 μm C_{18} カートリッジカラム(3.3 \times 0.46cm)上に注入し、WatersのHPLC系を使用して1mL/分の流速にて遊動相により溶出させた。類似体を210nmにおける紫外吸収により監視し、結果をHewlett-Packard積分器により分析した。ピークの高さを、試料中に存在する類似体の定量に使用した。血漿分解は、1次の動力学に従い、 $t_{1/2}$ (試料の半分が分解されるのに要する時間)は、類似体残留量の10%対培養時間のプロットからグラフ的に求めた。化合物1、74、22および91は、マウスおよびヒト血漿中において120分を越える半減期を有する。比較のため、ブラジキノンのマウス、ラットまたはヒト血漿における半減期は、5分未満である。

【0084】例7

ラットにおけるブラジキニン誘発低血圧に対する保護雄のSprague-Dawleyラット(200-300g Charles River)を40mg/kg ipのナトリウムペントバルビタールにより麻酔した。左の大腿動脈および静脈にポリエチレンカニューレ(Intre-medie PE-50)を、また左の頸動脈にはPE-20カニューレを装着した。頸部カニューレをブラジキニンおよびブラジキニン類似体の投与に

2.2
0.15
0.05
0.05
0.07
0.04

使用した。大腿動脈のカニューレを、収縮期および拡張期圧の記録のために血圧変換器(Statham)およびBeckmanダイノグラフ(dynograph)に連結した。大腿静脈のカニューレは、維持麻酔投与に使用した。ある場合には、右の大腿静脈にカニューレを付け、投与の静脈および動脈経路の比較を行なうためにブラジキニンおよび類似体の注入に使用した。すべてのカニューレには、開通性を保つためにヘパリン添加(40U/mL)食塩水を満たした。

【0085】ラットを37℃の水ブランケット上に置き、平均動脈血圧 ≥ 90 mmHgおよび蹄部締めつけに対する正の応答により特徴付けられる安定した麻酔実施態様とした。各ラットに、左大腿カニューレを介して20回の連続したブラジキニン注射(0.5mL/kgにおいて0.4 $\mu g/kg$)を行ない標準的な低血圧性応答(平均動脈血圧において35-55mmHgの低下)を確立した。注射の間隔は、5分間であった。ブラジキニンに対する低血圧性応答は、極めて短命であって(3分間未満)、血圧は注射の間には基線水準まで戻る。ラットは、上述の条件下でのブラジキノンの反復投与に対して少なくとも7回のブラジキノンの連続投与までは感作(アナフィラキシー的)されない。ブラジキニンと化合物4(50-200nmol/kg)の同時投与は、血圧低下を減少あるいは阻止し、ブラジキニン誘発低血圧に対する保護を示す。

【0086】例8

肥満細胞脱顆粒アッセイ

混合腹膜性細胞を、3または4匹の雄のSprague-Dawleyラット(350g, Iffa-Credo、フランス)から10mLの0.9%NaCl(50 $\mu g/mL$ のヘパリンを含む)の腹腔内注射により採取した。腹腔部を1分間おだやかにマッサージした後、腹膜性細胞を取出し、貯留し、300gにて5分間遠心分離した。Krebs-Ringer緩衝溶液(KRB: 141.9mM NaCl; 4.7mM KCl; 1.0mM $CaCl_2$; 11.2mM $MgSO_4$; 2.5mM Na_2HPO_4 ; 0.6mM KH_2PO_4)にて3回すすいだ後、顕微鏡下で細胞を数え、適当な体積のKRB中に希釈してmLあたり約 2×10^6 細胞の細胞密度を達成した。0.5mLの分別量を0.4mLの Ca^{++} 非含有KRBと共に35℃にて5分間前加温し、試験される薬剤の適当な溶液0.1mLまたはその担体のみを添加した。15分後に、2.5mLの氷冷KRBの添加および氷上での冷却によって反応を停止

させた。

【0087】細胞懸濁物の遠心分離後、上澄のヒスタミン含有量をShoreらの方法(Immunol. 1959, 127:182)に従い、抽出操作を省略して蛍光測定的にアッセイした(励起365nm;放射450nm)。実験において使用された濃度でいずれの試薬もO-フタルジアルデヒドによる蛍光化を起こさなかった。細胞懸濁物の全ヒスタミン含有量は、超音波処理(2分間-5秒のパルス周期)の後に測定した。自発的ヒスタミン放出をすべての測定値から差し引いた。本発明の化合物、例えば化合物89および90は、先行技術のブラジキニン拮抗薬と比較して低減したヒスタミン放出を示した(化合物89および90のEC50値は、それぞれ312および216μg/mLである)。

【0088】例9

マウスブラジキニン苦悩試験

ブラジキニン類似体を鎮痛活性について、WalterらのAgents and Action 1989, 27:375に記載された方法に従ってアッセイした。雄CD-1マウス(20-30g, Charles River)をプロスタグランジンE₂(腹腔内に1mg/kg)により、ブラジキニンの攻撃(腹腔内に0.5mg/kg)の20分前に前処理した。8匹の動

物の試験群中のマウスあたりの苦悩の数を、ブラジキニン注射後直ちに2分間で測定した。担体またはブラジキニン類似体をブラジキニンに先立つ2分前に腹腔内に投与した。本発明の化合物は、先行技術のブラジキニン拮抗薬で必要とするより実質的に低い投与量で苦悩の応答を阻害した。

【0089】例10

カラゲナン誘発ラット足水腫アッセイ

ブラジキニン拮抗薬の抗炎症作用の評価を、カラゲナン誘発ラット足水腫アッセイを用いて行なった。8匹の80-100gの雌ラットを以下のとおり試験材料により処理した。0時において動物に0.5mLの化合物89および81を背部的に投与した。食塩水担体を正の対照として使用した。+1時間に、SIGMAから入手のカラゲナン(タイプIVラムダ)の1%溶液(0.9%食液中)を0.05mL、右後足の腹側に足底を通して注射し、炎症を誘発した。+4時間(カラゲナン注射後3時間)に足の厚みをダイヤル厚測径器を用いて測定した。化合物89および81は、0.01-0.001μg/mLの範囲において50%の炎症阻害を示した。

【0090】例11-毒性

上記例10において、本発明の化合物について何らの毒性効果も観察されなかった。

フロントページの続き

(51)Int. Cl. ⁶	識別記号	片内整理番号	FI	技術表示箇所
C07K 1/06				
	7/18	8318-4H		
// C07K 99:18				
(72)発明者	マイケル ジエフレイ アーネスト		(72)発明者	テレサ ヒング ホ
	アメリカ合衆国カリフォルニア州マウンテ			アメリカ合衆国カリフォルニア州ロス ア
	イン ビュー, スリーパー アベニュー			ルトス, エス・クラーク アベニュー
	210			495